مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۳، سال ۱۳۹۵

مقایسه مقادیر فنل کل در بافت‌های برگ و میوه ژنوتیپ‌های به و بررسی تأثیر آن در مقاومت به بیماری آتشک

Comparison of Total Phenolic Contents of the Leaves and Fruits of Quince Genotypes and its Effects on the Fire Blight Resistance

الناز قضاتی[۱]، حمید عبداللهی[۲] و سعید پیری[۳]

۱ و ۳ - به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ابهر، دانشکده کشاورزیو منابع طبیعی، ابهر
۲- دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۶

چکیده

قضاتی، ا.، عبداللهی، ح. و پیری، س. ۱۳۹۵. مقایسه مقادیر فنل کل در بافت‌های برگ و میوه ژنوتیپ‌های به و بررسی تأثیر آن در مقاومت به بیماری آتشک. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۳۴۵-** ۳۳۱.

فنل‌ها از متابولیت‌های ثانویه مؤثر در تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان است و بافت‌های برگ و میوه درخت به منبع مهمی از این گروه ترکیبات محسوب می‌شوند. پژوهش اخیر با هدف بررسی میزان و تغییرات فنل در بافت‌های برگ و میوه ژنوتیپ‌های به منطقه اصفهان و ارتباط آن با تحمل به بیماری آتشک انجام شد.برای این منظور، دوازده ژنوتیپ گزینش شده KVD4، SHA1، KVD3، PH2، ET1، NB3، KVD1، KM1، SVS1، SVS2، NB2 و شاهد رقم اصفهان، مورد ارزیابی قرار گرفتند. عصاره‌های اتانولی از نمونه‌های برگ در بهار و تابستان واز میوه‌های رسیده در ابتدای پاییز تهیه و با استفاده از معرف فولین سیکالتیو میزان فنل کل بر حسب معادل اسید گالیک اندازه‌گیری شد. نتایج بیانگر این بود که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر میزان فنل کل برگ دارای تفاوت معنی‌داری بودند. ژنوتیپ KVD4 و رقم اصفهان با مقادیر ۱۴/۹و ۲/۷ میلی‌گرم اسیدگالیک برگرم بافت تازه برگ به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فنل کل را داشتند. برگ‌های ژنوتیپ‌های به، افزایش پیوسته‌ای را در مواد فنلی تا انتهای تابستان نشان دادند.برخلاف نمونه‌های برگی، تفاوت معنی‌داری در میزان فنل کل میوه‌ها در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی مشاهده نشد. ارزیابی تأثیر میزان فنل به عنوان یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی روی توسعه بیماری آتشک، بیانگر همبستگی منفی شاخص حساسیت واریته‌ای (I.V.S) با میزان فنل کل در برگ‌های ابتدای تابستان در ژنوتیپ‌های به مورد بررسی بود.

واژه‌های کلیدی: *Cydonia oblonga* **Mill.**، *Erwinia amylovora*، **اسید گالیک، فنل، آتشک.**

نویسنده مسئول: habdollahi@yahoo.it تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۵۴۱

مقدمه

درخت به با نام علمی *Cydonia oblonga* Mill. متعلق به تیره وردسانان (Rosaceae) و زیر تیره سیبیان (Pomoideae) است (Sabeti, 1996). این گیاه بومی مناطقی از ایران، ترکمنستان و قفقاز است (Bakhriddinov,1985). میوه انواع وحشی به، کوچک و تنوع زیادی در زمان رسیدن نشان می‌دهند. طی قرن‌ها ایرانیان انواع برتر این درخت را گزینش کرده و در مناطق مختلف کشور به عنوان ارقام بومی مورد استفاده قرار داده‌اند. میوه به مصرف خوراکی، بهداشتی و دارویی داشته و به دلیل سازگاری این درخت با بسیاری از ارقام گلابی، هم‌گروه‌های گزینش شده آن، به عنوان پایه‌های پاکوتاه‌کننده برای احداث باغ‌های گلابی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Abdollahi, 2010). ارقام درخت به، منبع طبیعی بسیار خوبی از اسیدهای فنلی و مشتقات آن نظیر فلاونوئیدها هستند که جزء مواد مؤثره و درمانی این درخت محسوب می‌شوند (Silva *et al*., 2004؛ Oliviera *et al*., 2007). به طور طبیعی، بالغ بر هشت هزار ترکیب فنلی مختلف با تأثیراتی از قبیل دخالت در ساخت دیواره سلولی، تأثیر در مکانیسم دفاعی گیاه و تأثیر در خصوصیات میوه مانند رنگ، عطر، طعم و مزه در گیاهان شناسایی شده‌اند. در بین تأثیرهای مختلف فنل‌ها و مشتقات آن‌ها در فیزیولوژی گیاهی، نقش پلی‌فنل‌ها در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در بافت‌ها بیش از سایرین دارای اهمیت است (Sokol-letowska *et al*., 2007). همچنین ترکیبات فنلی به عنوان شاخص‌هایی برای مراحل رشد و تکامل فیزیولوژیک در طول رشد میوه در نظر گرفته می‌شوند (Macheix *et al*., 1990).

در بین درختان میوه مختلف، میوه و برگ درخت به، به عنوان یک گیاه دارویی مفید برای سلامتی انسان شناخته شده است که این امر به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد جراحت بافت‌های این درخت است (Silva *et al*., 2004؛ Yildirim, 2006؛ Wang *et al*., 2006؛ Alaa *et al*., 2010). تحقیقات نشان داده است که تنوع قابل توجهی از نظر ترکیبات فنلی در برگ‌های درخت به وجود دارد. مقدار مواد فنلی در برگ‌های درخت به، از ۴/۹ تا ۱۶/۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Oliveira *et al*., 2007). همچنین مشخص شده است که میزان ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف از جمله پروفیل ترکیبات فنلی در بین ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف درخت به متفاوت است (Silva *et al*., 2002). این ترکیبات فنلی بیش‌تر دربردارنده انواع اسید کافئویل کوئینیک، اسید دی کافئویل کوئینیک، کوئرستین-۳-اُ- گالاکتوزید، کوئرستین-۳-اُ- روتینوزاید، کامفرول- ۳- اُ- گلوکوزاید و

کامفرول-۳-اُ- روتینوزاید هستند (Oliveira *et al.*, 2007). بررسی‌ها همچنین بیانگر این بوده است که میزان مواد فنلی در برگ به از بخش‌های مختلف میوه شامل پوست، گوشت و دانه بیش‌تر است. در تحقیق کاستا و همکاران (Costa *et al.*, 2009) روی ترکیبات فنلی برگ به، نشان داده شد که اسید ۵- اُ کافئویل کوئینیک فنل غالب برگ به است. گزارش شده است که ارتباط معنی‌دار نیز بین ترکیبات فنلی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برگ‌های این درخت وجود دارد (Sawdogo *et al.*, 2006). در بررسی دیگری که روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ به انجام شد، مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این برگ از برگ چای سبز بیش‌تر است. در این بررسی ارزش IC50 به عنوان شاخص فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ به و در چای سبز به ترتیب به میزان ۲۱/۶ و ۱۲/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره استخراجی گزارش شد (Costa *et al.*, 2009). مقایسه محتوای ترکیبات فنلی میوه به در مقایسه با میوه سیب بیانگر پنج برابر بودن این ترکیبات در میوه به در مقایسه با میوه سیب بوده است (Hamauzu *et al.*, 2005).

با توجه به اهمیت ترکیبات فنلی در سمیت‌زدایی رادیکال‌های فعال اکسیژن، این ترکیبات می‌توانند نقش مهمی را در تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده، مقاومت به آفات و همچنین جلوگیری از اثر سوء طول موج‌های کوتاه نور خورشید از جمله اشعه ماوراءبنفش در گیاه ایفا کنند (Vermerris and Nicholson, 2006). در حالت عادی، بخش عمده‌ای از فنل‌های گیاهی به فرم استرها (Esters) یا گلیکوزیدها (Glycosides) در واکوئل‌های گیاهی ذخیره شده و این امر از ایجاد سمیت فنل‌ها برای سلول‌ها جلوگیری می‌کند. در شرایط تنش‌های مختلف، نظیر بیماری‌های قارچی، آنزیم‌های استراز و گلوکوزیداز از بخش‌های مختلف سلول نظیر دیواره سلولی آزاد و سبب ایجاد واکنش مقاومت نظیر آنچه در عکس‌العمل به قارچ *Erysiphe graminis* در جو گزارش شده است می‌شود (Shiraishi *et al.*, 1995). بر اساس پژوهش ویلجواک و همکاران (Viljeva *et al.*, 2009) ارتباط معنی‌داری بین افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد تنش اکسیداتیو نظیر سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز و همچنین کاهش میزان پلی‌فنل‌ها جهت افزایش سد دفاعی کوتیکول در ارقام مختلف درخت سیب برای مقاومت به بیماری آتشک (Fire blight) مشاهده شده است.در پژوهش دیگر توسط آذرآبادی و همکاران (Azarabadi, 2014) مشاهده شد که جلوگیری از تبدیل پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) به هیدروکسیل ($OH^{\cdot-}$) که خطرناک‌ترین رادیکال فعال اکسیژن در تنش اکسیداتیو باکتری عامل بیماری آتشک است، در ارقام متحمل‌تر گلابی اتفاق می‌افتد. با توجه به عدم وجود مکانیسم

دفـاع آنزیمـی بازدارنـده در کـاهش تبـدیل پراکسـید هیـدروژن بـه هیدروکسـیل، بـه نظـر می‌رسد سـاختارهای ضداکسـیداتیو غیرآنزیمـی نظیـر اسـید آسـکوربیک، ترکیبـات فنلـی و فلاونوئیـدها نقـش مهـم‌تـری در تحمـل بـه ایـن بیماری در مقایسه با ساختار دفاع ضداکسـیداتیو آنزیمی در این مرحله به عهده داشته باشند.

با توجه به این که درخت به از منـابع سرشـار مواد فنلی محسوب شده و اهمیتی که ایـن مـواد از نظر دارویی و تحمل به تنش‌های زنـده و غیـر زنده بر عهده دارند، در تحقیق اخیر به بررسی و مقایسه میزان کل مواد فنلی در بافت‌های برگ و میوه و تغییرات آن در دوازده ژنوتیـپ گـزینش شده از درخت به پرداخته شد. همچنین با توجـه بـه اهمیـت بیمـاری آتشـک در ایـن درخـت بـه بررسی امکان ارتباط میزان این ترکیبات با درجه تحمل به بیمـاری در ارقـام مختلـف بـه پرداختـه شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج عصاره

این پژوهش روی درختان هشت ساله دوازده ژنوتیپ به گزینش شده از استان اصـفهان شـامل ژنوتیـپ‌هـای KVD4، SHA1، KVD3، PH2، ET1، NB3، KVD1، KM1، SVS1، SVS2، NB2 و رقم شاهد تجاری به اصـفهان بـه عنـوان شاهد موجود در باغ کلکسیون درخت به بخـش تحقیقات باغبانی مؤسسه اصـلاح و تهیـه نهـال و بـذر انجـام شـد (Abdollahi *et al.*, 2013). ژنوتیپ‌های انتخابی همگـی بـر اسـاس کیفیـت برتر میوه، عادت رشد مطلـوب‌تـر در مقایسـه بـا رقـم شـاهد بـه اصـفهان و تحمـل بـه تـنش‌هـای محیطی در کلکسیون انتخـاب و در ایـن تحقیـق مـورد بررسـی قـرار گرفتنـد. نمونـه‌بـرداری از برگ‌ها و میوه‌های ارقام و ژنوتیپ‌های به مـورد نظر به صورتی انجام شد که نمونه‌های برگی در چهار مرحله، از پنج درخت مختلف متعلق به هر رقـم یـا ژنوتیـپ موجـود در کلکسـیون در سـه تکرار، و هر تکرار شامل دوازده نمونه برگـی از برگ‌هـای وسـط شـاخه‌هـای درحـال رشـد کـه دارای سطح برگ تکامل یافته بودند، انجام شد. برای این منظـور، از اواخـر بهـار **۱۳۹۳** تـا آخـر تابستان همان سال، به ترتیب در تاریخ‌هـای دهـه اول خرداد ماه، دهه اول تیر ماه، دهه دوم مـرداد ماه و دهه سـوم شـهریور مـاه نمونـه‌هـای برگـی جمع‌آوری و ارزیابی شدند. همچنین نمونه‌هـای میوه از میـوه‌هـای رسـیده ارقـام و ژنوتیـپ‌هـای مورد نظر در دهه دوم مهرماه همان سال برداشت شـدند. کلیـه نمونـه‌هـای برگـی مـورد نظـر، پـس از شستشـو بـا آب مقطـر، در فریـزر ۲۰- درجـه سـانتی‌گـراد و نمونـه‌هـای میـوه در سردخانه ۴ درجه سانتی‌گراد نگهـداری شـدند. نمونه‌های میوه به منظـور جلـوگیری از تغییـرات میـزان فنـل، بلافاصـله پـس از برداشـت بـرای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره‌گیری شدند.

اسـتخراج ترکیبـات فنلـی بـر اسـاس روش ارائـه شـده توسـط بخشـی و آراکـاوا (Bakhshi and Arakawa, 2006) بـا انـدکی

تغییرات انجام شد. مقدار نیم گرم از نمونه برگ با استفاده از نیتروژن مایع پودر و سپس پنج میلی‌لیتر حلال استخراج حاوی اتانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. به منظور انجام عمل استخراج، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت بیست دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از این مرحله، بخش روشناور از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد.عصاره‌های تهیه شده تا زمان استفاده در فریزر نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان فنل کل

برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی، از روش فولین سیکالتیو (Folin-Ciocalteu) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu uv/vis- 1700) استفاده شد (Singh *et al.*, 2002). در لوله‌های آزمایش بیست میکرولیتر از عصاره‌ها با دو میلی‌لیتر آب مقطر و صد میکرولیتر معرففولین سیکالتیو مخلوط شدند.بعد از سه دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کربناتسدیم ۷ درصد اضافه شد و محلول‌ها بهمدت دو ساعت در دمای محیط روی شیکر قرار داده شدند.پس از این مرحله میزان جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد.منحنی استانداردمیزان فنل بر حسب میزان اسید گالیک (Gallic acid) با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ترسیم شد و میزان فنل نمونه‌ها برحسب معادل میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم بافت تازه برگ یا میوه مورد محاسبه قرار گرفت.

ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک

ارزیابی مقاومت به بیماری آتشک بر اساس میزان آلودگی طبیعی بیماری در زمان طغیان در سال ارزیابی میزان مواد فنلی (سال ۱۳۹۳) که در آن کلیه درختان به کلکسیون مورد استفاده به طور قابل توجهی مورد حمله عامل بیماری قرار گرفتند انجام شد. برای این منظور،سه شاخص مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت که شامل شاخص بلتسویل (I_{USDA})، شاخص حساسیت واریته‌ای (I_{VS}) و شاخص فراوانی (I_F) بودند. در ارزیابی مقاومت ارقام با استفاده از شاخص I_{USDA} کدگذاری با توجه به سن شاخه‌هایی که بیماری در آن نفوذ کرده بود انجام شد، بر این اساس به درختان فاقد علایم کد ۱۰، درختان دارای علایم در شاخه‌های سال جاری کد ۹، درختان دارای علایم در شاخه‌های یکساله و دوساله نیز به ترتیب کدهای ۸ و ۷ داده شد. به دلیل عدم پیشرفت باکتری عامل بیماری در بخش‌های مسن‌تر درخت، کدهای ۶ و پایین‌تر این شاخص مورد استفاده قرار نگرفت. شاخص I_{VS}به صورت درصد طول بخش نکروزه حاصل از پیشرفت آتشک در سرشاخه نسبت به طول کل سرشاخه اندازه گرفته شد. ارزیابی مقاومت با استفاده از شاخص I_F به صورت درصد تعداد سرشاخه نکروزه به کل سر شاخه‌های درخت

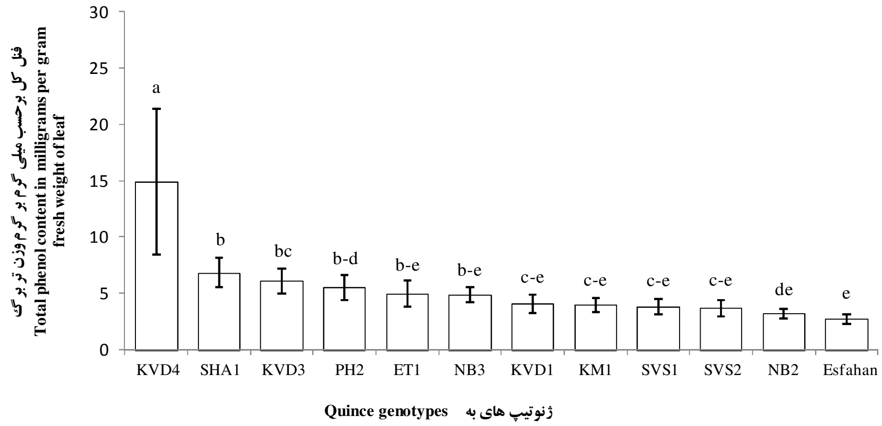
انجام شد. کلیه شاخص‌ها، روی پنج درخت و حداقل ده نمونه در هر درخت ارزیابی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

مطالعه روی برگ‌ها در قالب طرح کرت‌های خرد شده در زمان انجام شد. انتخاب نمونه‌ها به صورت کاملاً تصادفی بوده و برای میوه‌ها آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه واریانس نتایج حاصل به وسیله نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن و رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل (Microsoft Excel, 2007) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد استفاده از نظر میزان فنل کل در برگ بود، که این امر نشان دهنده تأثیر ژنوتیپ در میزان تولید نهایی ترکیبات فنلی در درخت به است. این نتایج نشان داد که میزان فنل در ژنوتیپ KVD4 با مقدار ۱۴/۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم بیش‌تر از سایر ژنوتیپ‌هابود و بعد از آن سایر ژنوتیپ‌هابا میزان فنل کل کم‌تر از ۱۰ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم در سطوح پایین‌تری از نظر میزان ترکیبات مواد فنلی کل قرار گرفتند. همچنین رقم تجاری به اصفهان (شاهد)، با میزان ۲/۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم دارای کم‌ترین میزان فنل کل بود (شکل ۱). نتایج میزان فنل کل در میوه ژنوتیپ‌های مختلف به نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان فنل میوه آن‌ها وجودنداشت. در مطالعه مشابهی که توسط امیراحمدی (Amirahmadi, 2015) در رابطه با میزان مواد فنلی و فلاونوئیدهای برگ و میوه ارقام و ژنوتیپ‌های به مناطق شمالی، شمال غرب و شمال شرق کشور انجام شد، تفاوت معنی‌داری در میزان این مواد در بافت‌های مختلف برگ و به ویژه میوه مشاهده شد، به صورتی که میزان آن‌ها تا حد زیادی تابع منشاء جمع‌آوری آن‌ها بود. بر این اساس، بیش‌ترین میزان مواد فنلی در ژرم‌پلاسم به استان خراسان رضوی و کم‌ترین آن در ژرم‌پلاسم به استان اردبیل مشاهده شد. با توجه به این که درخت به درختی با خصوصیت خودسازگاری نسبی دانه گرده محسوب شده و میزانی از خودسازگاری در بسیاری از ارقام و ژنوتیپ‌های به مشاهده می‌شود، لذا این درخت از نظر ژنتیکی در سطح هتروزیگوسیتی پایین‌تری نسبت به درختان میوه نزدیک و کاملاً خودناسازگار نظیر سیب و گلابی قرار گرفته است. از طرفی نتایج خرم‌دل‌آزاد و همکاران (Khoramdel Azad *et al*., 2013) با استفاده از نشانگر مولکولی توالی‌های ساده تکراری (SSRs)، بیانگر جدا بودن جمعیت‌های مختلف درخت به کشور بر اساس منشاء جمع‌آوری و گزینش آن‌ها بوده است، به طوری که

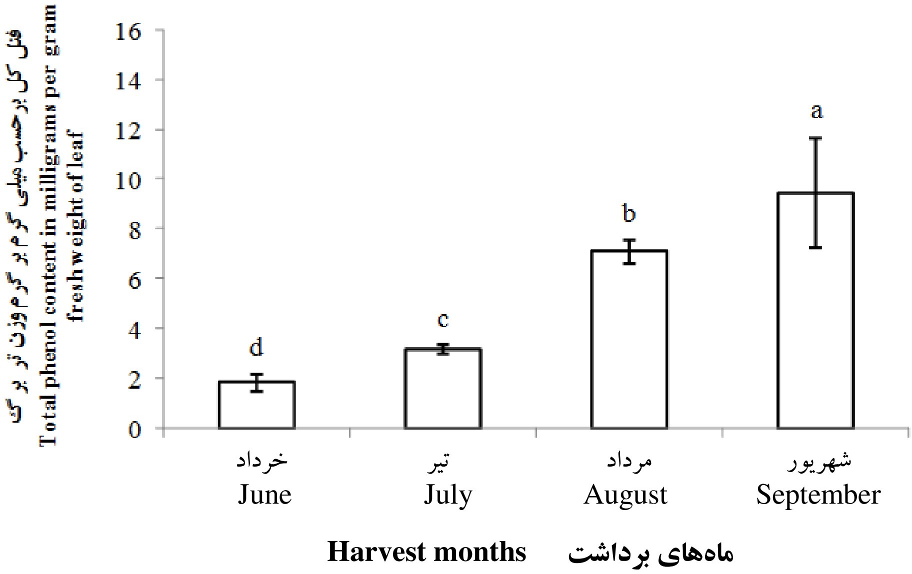


شکل ۱- مقایسه مقادیر فنل کل برگ ارقام و ژنوتیپ‌های گزینش شده درخت به منطقه اصفهان
حروف مشابه روی ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. خطوط عمودی بالای نمودار بیانگر میانگین‌ها ± خطای استاندارد است.

Fig. 1. Comparison of total phenol content of the leaves of selected quince cultivars and genotypes from Isfahan region
Similar letters on the columns show non-significant differences in at 1% level of probability based on the Duncan`s multiple range test. The vertical lines on the columns show means±standard errors.

ژنوتیپ‌های یک منطقه دارای شباهت قابل توجه و ژنوتیپ‌های مناطق مختلف از یک‌دیگر متمایز و قابل تفکیک بودند. بر اساس دو مؤلفه فوق، به نظر می‌رسد میزان ترکیبات فنلی ضمن تبعیت ازژنوتیپ درخت، به دلیل وجود تنوع کم و میزان یکنواختی بالا در جمعیت‌های یک منطقه به تنهایی، که در این بررسی متعلق به ژنوتیپ‌های منطقه اصفهان بود، میزان تنوع نسبتاً پایینی در میزان مواد فنلی میوه و حتی برگ آن‌ها مشاهده شد.

همچنین نتایج بیانگر وجود اختلاف معنی‌داری در میزان فنل کل در زمان‌های مختلف برداشت نمونه‌های برگی بود. بر این اساس، بالاترین مقدار فنل کل برگ مربوط به برداشت چهارم در شهریور ماه با میزان ۹/۴ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تازه برگ بود و کم‌ترین مقدار در برداشت اول در خرداد ماه با میزان ۱/۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم بافت تازه برگ مشاهده شد (شکل ۲). اثر متقابل ژنوتیپ و برداشت نیز در سطح احتمال ۱ درصد دارای تفاوت معنی‌دار بود که نتایج نشان داد در نمونه‌های برگی شهریور ماه بالاترین مقدار فنل کل مربوط به ژنوتیپ KVD4 با میزان ۵۰/۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم و کم‌ترین مقدار مربوط به ژنوتیپ SVS2 در برداشت اول با میزان ۰/۴ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم بود (جدول ۱).بررسی میانگین فنل کل در هر ژنوتیپ در برداشت‌های مختلف نشان داد که مقدار فنل از برداشت اول در خرداد ماه تا برداشت سوم در مرداد ماه رو به افزایش بود و در برداشت آخر که متعلق به شهریور ماه بودکاهش یافت.این موضوع نشان



شکل ۲- مقایسه مقادیر فنل کل درماه‌های مختلف برداشت برگ ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف درخت به منطقه اصفهان

حروف مشابه روی ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. خطوط عمودی بالای نمودار بیانگر میانگین‌ها ± خطای استاندارد است.

Fig. 2. Comparison of total phenol content of different months of harvest of the leaves of quince cultivars and genotypes from Isfahan region

Similar letters on the columns show non-significant differences at 1% level of probability based on the Duncan`s multiple range test. The vertical lines on the columns show means±standard errors.

جدول ۱- مقایسه مقادیر فنل کل در برداشت‌های مختلف برگ ارقام و ژنوتیپ‌های به منطقه اصفهان

Table 1. Comparison of total phenol content of the different harvests of the leaves of quince cultivars and genotypes from Isfahan region

ژنوتیپ‌ها Genotypes	Leaf harvests برداشت‌های برگ			
	برداشت اول[1] First harvest[1]	برداشت دوم[1] Second harvest[1]	برداشت سوم[1] Third harvest[1]	برداشت چهارم[1] Fourth harvest[1]
KVD1	0.7bc ± 0.05	2.45cd ± 0.14	6.93bc ± 0.47	6.12bc ± 1.47
KVD3	1.85bc ± 0.78	4.97a ± 0.87	9.38ba ± 0.54	8.06bc ± 3.02
KVD4	0.81bc ± 0.10	2.26d ± 0.65	5.63d ± 0.83	50.96a ± 5.95
NB2	3.39b ± 1.29	2.25d ± 0.52	3.95c ± 1.18	3.18c ± 0.38
NB3	6.41a ± 2.32	3.19bcd ± 0.75	5.59c ± 0.58	4.28c ± 0.17
SVS1	0.93bc ± 0.06	2.88cd ± 0.26	5.21c ± 0.93	6.28bc ± 0.03
SVS2	0.43c ± 0.07	4.64ab ± 0.38	6.08bc ± 1.47	3.61c± 0.70
KM1	2.12bc ± 0.26	2.10d ± 0.27	6.30bc ± 1.23	5.43bc ± 0.20
ET1	1.01bc ± 0.26	4.04abc ± 0.41	10.98a ± 1.46	3.72c ± 0.54
PH2	1.67bc ± 0.32	3.25bcd ± 0.44	10.41a ± 1.54	6.76bc ± 1.22
SHA1	1.56bc ± 0.74	3.98bc ± 0.74	10.34a ± 1.25	11.41b ± 0.11
Isfahan	1.11bc ± 0.56	2.13d ± 0.46	4.28c ± 0.24	3.33c ± 0.20

[1]برداشت اول:دهه اول خرداد ماه؛برداشت دوم: دهه اول تیر ماه؛برداشت سوم: دهه دوم مرداد ماه؛ برداشت چهارم: دهه سوم شهریور ماه.

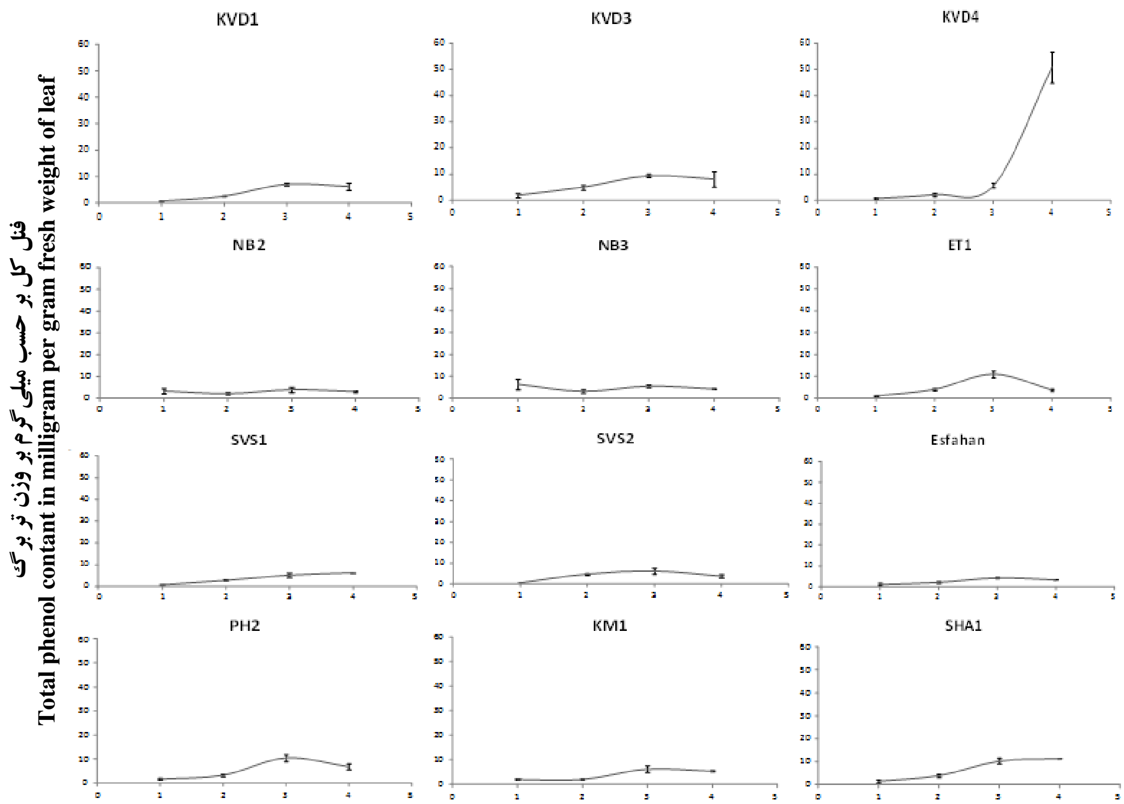
[1]First harvest: Late May; Second harvest: Late June; Third harvest: Early August; Forth harvest: Mid September.

حروف مشابه در هر ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

Similar letters in each column shows non-significant differences 1% level of probability based on the Duncan`s multiple range test.

می‌دهد که روند تغییرات مواد فلاونوئیدی و فنلی در بیشتر ژنوتیپ‌ها دارای روند یکسانی همانند آنچه در ارقام و ژنوتیپ‌های نیمه شمالی کشور توسط امیراحمدی (Amirahmadi, 2015) گزارش شده، است. از سوی دیگر، تنها ژنوتیپ KVD4 از اولین برداشت تا برداشت چهارم سیر صعودی داشت و در برداشت آخر بالاترین مقدار فنل را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارا بود که این میزان به بالای ۵۰ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم بافت تازه برگ افزایش یافت که تکرار این بررسی در نمونه‌های مختلف مؤید استثناء بودن این ژنوتیپ از نظر میزان فنل در آخر فصل تابستان بود (شکل ۳).در بررسی خصوصیات رویشی و زایشی ارقام و ژنوتیپ‌های درخت به ایران توسط علیپور و همکاران (Alipour *et al*., 2014) ژنوتیپ KVD4 به عنوان یکی از ژنوتیپ‌های برتر و امیدبخش از میان حدود ۵۰ ژنوتیپ مورد ارزیابی،انتخاب شد. در این بین، یکی از دلایل اصلی انتخاب این ژنوتیپ به عنوان رقم امیدبخش، تحمل بالای آن به تنش‌های محیطی و در نتیجه عملکرد مطلوب آن در مقایسه با بسیاری از دیگر ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. این رقم از میزان قابض بودن بالایی در مقایسه با دیگر ارقام و ژنوتیپ‌ها نیز برخوردار بود. باتوجه به این که تانن‌ها به عنوان یکی از عوامل ایجاد طعم قابض در میوه، از گروه مواد فنلی گیاه محسوب می‌شوند (Vermerris and Nicholson, 2006)،به نظرمی‌رسد طعم قابض میوه در این ژنوتیپ می‌تواند با خصوصیات نسبتاً متفاوت تولید ترکیبات ثانویه بالای این ژنوتیپ در ارتباط باشد.

بررسی همبستگی ارتباط تحمل به بیماری آتشک با سه شاخص مورد استفاده در این تحقیق شامل شاخص بلتسویل (I_{USDA})، شاخص حساسیت واریته‌ای (I_{VS}) و شاخص فراوانی (I_F)با میزان فنل کل در بافت‌های مختلف و میانگین فنل کل در برداشت‌های مختلف برگ در جدول ۲نشان دهنده این بود که، در بیش‌تر موارد همبستگی معنی‌داری بین میزان فنل برگ و میوه و تحمل به بیماری آتشک در ژنوتیپ‌های درخت به قابل مشاهده نبود. تنها ارتباط معنی‌دار مشاهده شده، ضریب همبستگی ۰/۵۴۷- با تحمل به بیماری آتشک در برداشت دوم برگ یعنی در برگ‌های متعلق به ابتدای تابستان بود. مشاهدات انجام شده توسط قهرمانی و همکاران (Ghahremani *et al*., 2013) بیانگر وجود بیش‌ترین میزان خسارت بیماری آتشک در سرشاخه‌های ارقام و ژنوتیپ‌های به در اردیبهشت و خرداد ماه بود، که به تدریج بیماری پیشرفت محدودی را تا اوایل تابستان پیدا می‌کند و تقریباً با شروع فصل گرما و کاهش رطوبت نسبی هوا پیشرفت بیماری کاملاً متوقف می‌شود. بر اساس این مشاهدات، شاید بتوان چنین بیان کرد که میزان نهایی پیشرفت بیماری آتشک در ارقام و ژنوتیپ‌های درخت



شکل ۳- مقایسه مقادیر فنل کل برگ ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف درخت به منطقه اصفهان درچهار برداشت مختلف شامل برداشت اول خرداد ماه، برداشت دوم تیر ماه، برداشت سوم مرداد ماه و برداشت چهارم شهریور ماه

خطوط عمودی بالای نمودار بیانگر میانگین‌ها ± خطای استاندارد است.

Fig.3. Comparison of total phenol content of the leaves of different quince genotypes from Isfahan in four different harvests including first harvest: June, second harvest: July, third harvest: August, forth harvest: September

The vertical lines on the columns show means±standard errors.

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های مقاومت به بیماری آتشک در ارقام و ژنوتیپ‌های به و میزان فنل کل میوه، فنل کل برگ و فنل برگ در برداشت‌های مختلف

Table 2. Correlation coeffinients between fire blight disease resistance indices and total phenol contents of fruits and leaves and phenol contents of leaves in different harvests

شاخص بیماری Disease index	فنل میوه Fruit total phenol	فنل کل برگ Leaf total phenol	فنل برگ برداشت ۱ Leaf phenol H1	فنل برگ برداشت ۲ Leaf phenol H2	فنل برگ برداشت ۳ Leaf phenol H3	فنل برگ برداشت ۴ Leaf phenol H4
I.V.S	0.303^{ns}	0.009^{ns}	-0.277^{ns}	-0.547*	-0.0811^{ns}	0.097^{ns}
I_{USDA}	0.143^{ns}	-0.248^{ns}	-0.140^{ns}	0.477^{ns}	-0.0484^{ns}	-0.245^{ns}
I_F	0.016^{ns}	0.267^{ns}	-0.245^{ns}	0.329^{ns}	0.445^{ns}	0.179^{ns}

* : معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ns: غیر معنی‌دار.

*: Significant at the 5% level of probabiliyu and ns: Not-significant.

H1, H2, H3 and H4: Harvest 1, 2, 3 and 4.

به تا انتهای بهار و اوایل تابستان کامل می‌شود و با استفاده از شاخص‌های مختلف مورد استفاده، این پیشرفت قابل ارزیابی کمی است. بر همین اساس، مشاهده می‌شود که بیش‌ترین میزان همبستگی بین میزان فنل کل و تحمل به بیماری آتشک اولاً در برگ که به عنوان شاخصی از میزان فنل در بخش‌های رویشی است، مشاهده شد. لازم به ذکر است که بر اساس مشاهدات شدت خسارت بیماری آتشک در این سال، اگرچه هم شکوفه و هم سرشاخه‌ها از بافت‌های مورد تهاجم باکتری عامل بیماری آتشک هستند، لیکن خسارت اصلی و مهم بیماری در بافت‌های رویشی و به‌ویژه سرشاخه‌های در حال رشد فعال در اردیبهشت و خرداد ماه مشاهده شد. ثانیاً میزان این همبستگی در برداشت دوم برگ که مربوط به ابتدای تابستان است افزایش و در دوره‌های قبلی و بعدی همبستگی کم‌تری را نشان داد و در نهایت بیش‌ترین میزان همبستگی و تنها همبستگی معنی‌دار بین شاخص حساسیت واریته‌ای و میزان فنل در برداشت دوم برگ در ابتدای تابستان مشاهده شد (جدول ۲). رابطه منفی مشاهده شده در این همبستگی نیز نشان می‌دهد که با افزایش فنل، شاخص حساسیت واریته‌ای که به صورت درصد پیشرفت بیماری در سرشاخه‌ها تعیین می‌شود، کاهش یافته که نشانگر تأثیر مثبت بالا بودن فنل در این زمان روی کاهش پیشرفت بیماری در سرشاخه‌های این درخت است.بررسی‌های مختلف انجام شده در مورد اثر متقابل بیماری آتشک با گیاهان میزبان، بیانگر نقش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) در این اثر متقابل بوده است (Venisse *et al.*, 2001). بر این اساس، وجود واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی می‌تواند نقش مهمی را در این اثر متقابل چه در جهت کاهش علایم و چه در جهت افزایش علایم بر عهده داشته باشند. بررسی عبداللهی و همکاران (Abdollahi *et al.*, 2015) در درخت سیب و گلابی نشان دهنده نقش مثبت افزایش تولید پراکسید هیدروژندر کاهش گسترش عامل بیماری آتشک با سلول‌های میزبان بود، به صورتی که این افزایش با هدف محدود کردن پیشرفت عامل بیماری و به وسیله کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌ها نظیر کاتالاز (Hassani, 2013) اعمال می‌شود. همچنین بررسی آذرآبادی (Azarabadi, 2014) بیانگر نقش احتمالی سیستم دفاع آنتی‌اکسیداتیو غیر آنزیمی نظیر فنل‌ها و اسید آسکوربیک در جلوگیری از تولید بیش از حد رادیکال هیدروکسیل در اثر متقابل بین باکتری عامل آتشک با پایه‌های گلابی بوده است. بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد میزان نهایی ترکیبات ثانویه گیاهی نظیر فنل‌ها که نقش مؤثری در سیستم دفاع آنتی‌اکسیداتیو غیر آنزیمی گیاهان دارند، می‌توانند به عنوان یک عامل کلیدی برای کاهش اثر مخرب رادیکال هیدروکسیل عمل کرده و از شدت خسارت بیماری آتشک در ارقام و ژنوتیپ‌های

متحمل‌تر به کاهند. از سوی دیگر، بررسی‌ها نشان داده است که حداقل بخشی از رفتار متقابل باکتری عامل آتشک به صورت موضعی و چندساعت پس از آغاز اثر متقابل شروع و به صورت واکنش‌های منجر به تحمل و یا حساسیت در بافت‌های میزبان تظاهر پیدا می‌کند. دلیل اشاره به این مطلب این است که ضمن اهمیت پتانسیل طبیعی سدهای دفاعی میزبان در مقاومت به تنش‌های زنده نظیر بیماری آتشک، به منظور شناخت هرچه بهتر و دقیق‌تر این رفتار، لازم است تغییرات این مواد به صورت لحظه پس از تزریق عامل بیماری در بافت‌های میزبان‌های حساس و متحمل نیز مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد. به نظر می‌رسد با توجه به اطلاعات حاصل شده در ارتباط با اثر متقابل باکتری عامل آتشک با گیاه میزبان، بررسی عکس‌العمل سیستم دفاع آنتی‌اکسیداتیو غیر آنزیمی گیاه میزبان که در آن ترکیبات ثانویه‌ای نظیر فنل‌ها و زیرمجموعه‌های آنها نقش اساسی بر عهده دارند، به عنوان یک نقطه کلیدی در شناخت بیش‌تر و عمیق‌تر ساختارهای مقاومت و توقف پیشرفت بیماری در بافت‌های میزبان بتواند مد نظر قرار گرفته و مورد بررسی بیش‌تری قرار گیرد.

References

Abdollahi, H. 2010. Pear, Botany, Cultivars and Rootstocks. Iranian Agricultural Ministry Publications, Tehran, Iran, 210pp. (in Persian).

Abdollahi, H., Alipour, M., Khorramdel Azad, M., Mehrabipour, S., Ghasemi, A., Adli, M., Atashkar, D., and Akbari, M. 2013. Establishment of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) germplasm collection from various regions of Iran. Acta Horticulturae 976: 199-203.

Abdollahi, H., Ghahremani, Z., and Erfani Nia, K. 2015. Role of electron transport chain of chloroplasts in oxidative burst of interaction between *Erwinia amylovora* and host cells. Photosynthesis Research 124: 231–242.

Alaa, G. M., Koutb, O. M., Sayed, A., and El-D.H. 2010. Use of hematological parameters to assess the efficiency of quince (*Cydonia oblonga* Miller) leaf extract in alleviation of the effect of ultraviolet-A radiation on African catfish *Clarias gariepinus*. Journal of Photochemistry and Photobiology 99: 1-8.

Alipour, M., Abdollahi, H., Abdousi, V., Ghasemi, A. A., Adli, M., and Mohamadi, M. 2014. Evaluation of vegetative and reproductive characteristics and distinctness of some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from different regions of Iran. Seed and Plant Improvement Journal 30-1: 507-529 (in Persian).

Amirahmadi, Z. 2015. Evaluation of phenolic and flavonoide compounds and

antioxidant capacity and their variations in the tissues of quince cultivars and genotypes from Northern region of Iran. M.Sc. Thesis, College of Agricultire, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran. 113pp. (in Persian).

Azarabadi, S. 2014. Assessment of resistance and survey on some tolerance structures to fire blight (*Erwinia amylovora*) in some new pear cultivars and rootstocks from Iran. M.Sc. Thesis, College of Agricultire, Islamic Azad University, Varamin-Pishva Branch, Varamin, Iran. 128pp. (in Persian).

Bakhriddinov, N.B. 1985. Wild relatives of fruit crops in Central Asia and the upper limit of their distribution. Dep: 3408-85. 14pp. (in Russian).

Bakhshi, D., and Arakawa O.2006. Effects of UV-B irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation. Journal of Food, Agriculture and Environment 4: 75-79.

Costa, R. M., Magalhães, A. S., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentão, P., Carvalho,M., and Silva, B. M. **2009**. Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: A comparative studywith green tea (*Camellia sinensis*). Food Chemistry and Toxicology 47: 860-865.

Ghahremani, Z., Alipour, M., Abdollahi, H., Mohammdi, M., Ghasemi, A., and Adli, M. 2013. Selecting effective indices for evaluation of fire blight resistance in quince germplasm in orchard condition. Acta Horticulturae 1056: 247-252.

Hamauzu, Y., Yasui, H., Inno, T., Kume, C., and Omanyuda, M. **2005**. Phenolic profile antioxidant property, and anti-influenza viral activity of Chinese quince(*Pseudocydonia sinesis* Schneid.), quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and apple (*Malus domestica* Mill.) fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 928-934.

Hassani, M. 2013. Isolation and evaluation of diversity of some PR genes in host plants of fire blight and their expression in this interaction. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Islamic Azad University of Tehran, Science and Research Branch, Tehran, Iran, 143pp. (in Persian).

Khoramdel Azad, M., Nasiri, J., and Abdollahi, H. 2013. Genetic diversity of selected Iranian quinces using SSRs from apples and pears. Biochemical Genetics 51: 426-442.

Macheix, J. J., Fleuriet A., and Billot J. 1990. Fruit Phenolics. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 292pp.

Oliveira, A. P., Pereira, J. A., Andrade, P. B., Valentão, P., Seabra, R. M., and Silva, B. M. 2007. Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 7926-7930.

Sabeti, H. 1996. Iranian Forests, Trees and Shrubs. Publications of Agricultural and Natural Resources Organization, Tehran, Iran. 810 pp. (in Persian).

Sawdogo, W. R., Meda, A., Lamien, C. E., Kiendrebeogo, M., Guissou, I., and Nacoulma, O. G. 2006. Phenolic content and antioxidant activity if six Acanthaceae from Burkina Faso. Journal of Biological Sciences 6: 249-252.

Shiraishi, T., Yamada, T., Nicholson, R. L., and Kunoh, H., 1995. Phenylalanine ammonia-lyase in barley: Activity enhancement inresponse to *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* (race 1) a pathogen, and pisi,a non-pathogen. Physiological and Molecular Plant Pathology 46: 153-162.

Silva, B. M., Andrade, P. B., Ferreres, F., Domingues, A. L., Seabra, R. M., and Ferreira, M. A. 2002. Phenolic profile of quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) (pulp and peel). Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 4615-4618.

Silva, B. M., Andrade, P. B., Valentão, P., Ferreres, F., Seabra, R. M., and Ferreira, M. A. 2004. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 4405-4712.

Singh, R. P., Murthy, K. N. C., and Jayaprakasha, G. K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitromodels. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 81-86.

Sokol-letowska, A., Oszmianski, J., and Wojdylo, A. 2007. Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. Food Chemistry 103:853-859.

Venisse, J.S., Guller, G., and Brisset, M.N. 2001. Evidence for the involvement of an oxidative stress in the initiation of infection of pear by *Erwinia amylovora*. Plant Physiology 125: 2164-2172.

Vermerris, W., and Nicholson, R. 2006. Phenolic Compound Biochemistry. Springer Press, Dordrecht, The Netherlands. 276pp.

Viljevac, M., Dugalic, K., Stolfa, I., Dermic, E., Cvjetkovic, B., Sudar, R., Kovacevic, J., Cesar, V., Lepedus, H., and Jurkovic, Z. 2009. Biochemical basis of apple leaf resistance to *Erwinia amylovora* infection. Food Technology and Biotechnology 47: 281–287.

Wang, X., Jia, W., and Zhao, A. 2006. Anti-influenza agents from plants and traditional Chinese medicine. Phytotherapy Research 20: 335-341.

Yildirim, H. T. 2006. Evaluation of color parameters and antioxidant activities of fruit wines. International Journal of Food Sciences and Nutrition 57: 47-63.